



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Effekter av Bisfenol A (BPA) på hanrättors (*Rattus norvegicus*) reproduktion

Malin Lindell



Examensarbete, 15 hp

Agronomprogrammet - Husdjur, examensarbete för kandidatexamen

Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Uppsala 2015



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Effekten av Bisfenol A (BPA) på hanråttors (*Rattus norvegicus*) reproduktion

Effect of Bisphenol A (BPA) on male rat (*Rattus norvegicus*) reproduction

Malin Lindell

Handledare:

Ellinor Spörndly-Nees, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Lena Holm, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Husdjursvetenskap

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2015

Omslagsbild: Malin Lindell

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Bisfenol A, hanråtta, reproduktion, hormon, spermie, ROS

Key words: Bisphenol A, male rat, reproduction, hormone, spermatozoa, ROS

Abstract

Today evidence exist that environmental chemicals deteriorate male sperm quality and that testicular cancer is increasing. Bisphenol A (BPA) is a chemical with estrogenic effects used in the manufacture of polycarbonate plastic and are found in, for instance, plastic boxes, feeding bottles and food containers. Much of the research on how men's reproductive ability is influenced are performed on rats. This review article compiles how male rat reproduction is affected by BPA as a model for humans. Studies have investigated how sperm are affected, hormonal changes during reproduction and how reactive oxygen species (ROS) affects sperm. The results show that sperm quality and sperm motility is deteriorating if rats are exposed to BPA. The negative feedback regulation of testosterone decrease, leading to an increase of luteinizing hormone (LH), which in turn leads to a decrease of testicular function. A decrease of LH is also found that indicate a decrease of pituitary secretion of LH. Increased ROS production after exposure to BPA is making sperm unable to protect themselves and they end up in oxidative stress. Thus, there is evidence that male rats have an impaired fertility caused by exposure to BPA. Through further research the effects of BPA can be clarified in more detail, give us a better understanding of how BPA can cause deterioration of sperm quality and if there is a link to the increase in testicular cancer that is seen in humans.

Sammanfattning

Idag finns det bevis på att miljökemikalier försämrar männens spermiekvallité och att testikelcancer ökar. Bisfenol A (BPA) är en kemikalie med östrogena effekter som används vid tillverkning av polykarbonatplast, vilket återfinns i bland annat plastlådor, nappflaskor och livsmedelsbehållare. Mycket av forskningen som utförs gällande hur männens reproduktiva förmåga påverkas utförs på råttor. Denna litteraturstudie sammanställer hur hanråttors reproduktion påverkas av BPA som en modell för människa. Studier har undersökt hur spermier påverkas, vilka hormoner som förändras under reproduktionen och hur reaktiva syreföreningar (ROS) påverkar spermier. Resultaten visar att spermiekvallitén och spermiers motilitet försämras om råttorna exponeras för BPA. Den negativa feedback regleringen av testosteron minskar vilket leder till att luteiniserande hormon (LH) ökar som i sin tur leder till att testikelfunktionen bromsas. En minskning av LH har även upptäckts, vilket indikerar en minskad hypofys sekretion av LH. Ökad ROS produktion vid exponering för BPA gör att spermier inte kan skydda sig och hamnar i oxidativ stress. Därmed finns det bevis på att hanråttor får en försämrad fertilitet vid exponering för BPA. Genom fortsatta studier kan effekten av BPA kartläggas mer i detalj, förståelsen ökar för hur BPA kan orsaka försämring av spermiekvallitén och om det finns en koppling till ökningen av testikelcancer hos människan.

Introduktion

Bisfenol A (BPA) är en industriell kemikalie som används vid tillverkning av polykarbonatplast och epoxihartser, vilket är molekyler som kan härdas till hårdplast. Polykarbonatplast finns i ett flertal mat- och dryckesbehållare som används dagligen av människor, som exempelvis vattenflaskor, plastlådor, konserverade livsmedelsbehållare och nappflaskor. De finns även i många olika pappersprodukter och i vissa tandfyllningsmaterial. I konserverade livsmedelsbehållare används BPA som en skyddande lack på insidan och risken är stor att kemikalien läcker ut från behållaren och in i livsmedlen. BPA är en lättnedbrytbar kemikalie vilket resulterar i att människor får i sig den via maten. BPA har även hittats i miljöprover så som luft, damm och vatten. Vid exponering för BPA kan spår hittas i blodet, urinen och avföringen (UNEP & WHO 2012; Vandenberg et al., 2007; Livsmedelsverket, 2011) och BPA är ett hormonellt aktivt ämne som har svaga östrogena egenskaper (Livsmedelsverket, 2011). Effekterna av BPA är olika beroende på celltyp, men även beroende på inre och yttre influenser (Wetherill et al., 2007). Det tillåtna intaget av BPA har tagits fram av den Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet (EFSA) och de menar att ett accepterat intag av BPA är 0,05 mg/kg kroppsvikt och dag (UNEP & WHO, 2012). BPA misstänks påverka reproduktionen, den har även visats orsaka störningar vid utvecklingen av hjärnan och kan ge effekter på beteendet. Det finns ett antal olika hormoner som är inblandade i styrningen av hankönsreproduktionen, där de viktigaste är gonadotropinfrisättande hormon (GnRH), follikelstimulerande hormon (FSH), luteiniserande hormon (LH) och testosteron. GnRH stimuleras och frisätter LH och FSH. LH stimulerar leydigcellerna att producera testosteron och FSH stimulerar sertolicellerna att tillverka inhibin (Sjaastad et al., 2010).

Idag finns studier som visar att spermie kvalitén hos män minskar, att andelen testikel cancer ökar och att missbildningar på könsorganen hos barn kan förekomma vid exponering för miljökemikalier med hormonstörande ämnen (UNEP & WHO 2012). Om råttor exponeras för BPA under fosterstadiet finns en ökad risk för fetma och cancer, det kan även uppkomma avbrott i brunsten och för tidig stopp av brunstcykeln hos gnagare (Livsmedelsverket 2011). Sammantaget gör detta BPA till en viktig miljökemikalie för vidare studier. Råtta är ett vanligt försöksdjur som används, dock måste det tas i beaktning att det ofta är polykarbonatburar som används vid försöken och dessa burar innehåller BPA, vilket kan påverka resultaten. Det förekommer ett läckage av BPA i polykarbonatburar och desto äldre burarna är desto större är detta läckage (Howdeshell et al., 2003). Syftet med denna litteraturstudie är att sammanställa hur hanrättors reproduktion påverkas av BPA som en modell för människa. Fokus kommer ligga på hur spermie kvalitén påverkas beroende på när i livet exponeringen sker, men även hur hormoner och de reaktiva syreföreningarna (ROS) påverkas.

BPAs påverkan på spermier

När hanen nått könsmognad utsöndrar de leydiska cellerna i testiklarna testosteron som stimulerar produktionen av spermier. Könsceller genomgår en rad olika celldelningar innan det bildas färdiga spermier. En spermie består av ett huvud, mittstycke och en svans. Huvudet innehåller DNA, mittstycket innehåller cellens mitokondrier som producerar ATP och svansen är en cilium som kallas för flagell. Spermien fortsätter till bitestikeln där den mognar klart och får sin rörelseförmåga. När en parning sker transporteras spermerna ut genom urinröret till äggledaren där befruktningen sker (Sjaastad et al., 2010). För råttors könsceller tar det mellan 48 till 53 dagar innan en fungerande spermie har bildats (Hess, 1990).

Effekter av BPA exponering på spermiekvalitet under olika delar av livet

Det kan ha betydelse när i livet exponering för BPA sker, vilket olika studier visar. Salian *et al.* (2009a) studerade hanar som exponerats neonatalt (under avkommors första levnadsmånader) och Salian *et al.* (2009b) studerade hanar efter perinatal (före födseln) exponering. Råttorna exponerades oralt och jämförs med en kontrollgrupp som enbart fick olja (Salian et al., 2009b). Salian *et al.* (2009b) använde hanråttor av Holtzam stam, där råttorna blev exponerade för BPA vid olika tillfällen, sedan studerades möjliga negativa effekter på hanars avkommor. Koncentrationerna som användes vid exponeringen var 1,2 respektive 2,4 µg/kg kroppsvikt. Avkommorna (F₁) vars fäder blivit perinatalt exponerade blev parade med icke exponerade honor, de fick sedan avkommorna F₂ och F₃. Resultatet visade ett minskat antal spermier och att spermernas motilitet minskade hos alla hanliga avkommor (F₁, F₂ och F₃). Den första generationen F₁ fick försämrad fertilitet och spermatogenes, och effekten av BPA fanns fortfarande kvar hos F₂ och F₃ generationerna. Dessa negativa effekter förmedlades via könscellsöverföring (Salian et al., 2009b). I studien utförd av Salian *et al.* (2009a) användes hanråttor av Holtzam stam och koncentrationerna som användes var 0,6, 1,2, 2,4, 5 och 10 µg/30 µl vilket motsvarar 100, 200, 400, 800 och 1600 µg/kg kroppsvikt. Resultatet visade biverkningar på fertiliteten, genom störningar i Sertolicellers junctionala proteiner (SCJP). Vid koncentrationerna 200, 400, 800 och 1600 µg/kg kroppsvikt hittades en minskning av antalet spermier och spermernas motilitet var även sämre. Vid den neonatala exponeringen har BPA potential att störa hypotalamus – hypofys – testikel axeln, vilket styr produktionen av testosteron i testiklarna, vilket kan minska hanars fertilitet i vuxen ålder (Salian et al., 2009a). En liknande studie genomfördes av Doshi *et al.* (2013) som kom fram till liknande resultat, nämligen att BPA påverkar den hanliga fertilitet när råttor blir exponerade under den neonatala perioden. I studien analyserades uttrycken av insulinlikande tillväxtfaktor (*IGF2*) och RNA gen (*H19*) och DNA-metylering av generna. Dräktiga honråttor av stammen Holtzam användes och deras hanliga avkommor blev exponerade för BPA i fem dagar med en koncentration på 2,4 µg/30 µl vilket motsvarar 400 µg/kg kroppsvikt. Dessa hanar parades sedan och avlivades för analys av bitestikeln och spermier. Resultaten visade störningar i uttrycken av *IGF2* och *H19* som är en möjlig mekanism för BPAs negativa effekt på fertiliteten hos hanar (Doshi et al., 2013).

BPA kan påverka vuxna råttor, vilket Tiwari och Vanage (2013) har undersökt genom att titta på olika stadier av könsceller i spermatogenesisen. I deras studie fördelades hanrättor av Holtzham stam slumpvis i tre grupper med sju hanar i varje. Djuren exponerades oralt, sex dagar i följd där BPA koncentrationerna var 10 µg respektive 5 mg/kg kroppsvikt. Hanarna blev sedan parade med honor och efter en vecka avlivades rättorna och bitestiklarnas spermier undersöktes. Resultatet visade att exponering för båda koncentrationerna signifikant minskade hanarnas spermieproduktion jämfört med kontrollgrupperna. I studien upptäcktes även en minskning av spermernas motilitet i bitestikeln vid koncentrationen 5 mg/kg kroppsvikt. Ingen förändring av spermimorfologin, alltså spermies huvud, mittstycke eller svansregion hittades i någon av koncentrationerna. Tiwari och Vanages (2013) studie visade även att exponering för BPA försämrar testikelns dagliga produktion av spermier och bitestikelns lagring av spermier som i sin tur leder till försämrad fertilitet. Studien som utfördes av Wisniewski *et al.* (2015) hittade liknande resultat när de studerade hanrättor av Wistar stam. De tittade på förändringar i hormoner och om produktionen av spermier förändrades på grund av detta. Studien utfördes på 30 rättor fördelade i tre grupper som blev exponerade för BPA med koncentrationerna 5 respektive 25 mg/kg kroppsvikt. Vid båda koncentrationerna hittades en minskning med 50 procent av den totala dagliga spermieproduktionen, minst 70 procent minskning av spermiereserverna i alla segment av bitestikeln och 50 procent minskning av spermiers transittid i bitestikeln. Wisniewski *et al.* (2015) fann även att rättor som exponerades för BPA får en ökad mängd defekta spermier, brister i spermatogenesisen och försämrad mognad av spermier.

BPAs påverkan på hormoner

I hypotalamus frisätts GnRH som stimulerar sekretion av FSH och LH i hypofysens framlob. LH stimulerar leydigcellerna att producera testosteron, vilket i sin tur stimulerar produktionen av spermier i Sertolicellerna. Testosteron är viktigt under fosterstadiet då de hanliga könsorganen och de hanliga könsegenskaperna utvecklas. Testosteron har en negativ feedback på GnRH som i sin tur leder till en minskad frisättning av FSH och LH. Detta leder till minskad produktion av testosteron och det frisätts GnRH från hypofysen igen. FSH stimulerar sertoliceller som främjar spermatogenesisen och sertolicellerna producerar hormonet inhibin. Inhibin verkar som en broms på spermatogenesisen genom att hindra frisättningen av FSH från hypofysens framlob. Detta leder till att produktionen av FSH minskar vilket leder till att spermatogenesisen hämmas (Sjaastad *et al.*, 2010).

Tohei *et al.* (2000) studerade hur BPA påverkade hypotalamus, hypofysen och könskörtlar hos vuxna hanrättor av Wistar stam. Rättor exponerades för BPA i två veckor med koncentrationerna 1 mg/råtta/dag respektive 100 µg/råtta/dag och varje försök användes fem till sex rättor. En ökning av LH hittades hos hanar som exponerats för 1 mg BPA, vilket kan påverka hypofysen och testikelns funktion och även en minskning av testosteron och progesteron hittades vid 1 mg BPA. Däremot hittades ingen förändring av FSH vid exponering för 1 mg BPA. Exponering för 100 µg/råtta/dag BPA visade ingen effekt. BPA exponering visade en signifikant ökning av plasma koncentrationerna av LH i vuxna rättor, medan plasma koncentrationen av testosteron minskade i jämförelse med kontrollgruppen. Tohei *et al.* (2000) kom

fram till att BPA hämmar testikelfunktionen och ökar LH:s plasmanivåer. Anledningen till att LH ökar kan förklaras med att den negativa feedback regleringen av testosteron minskar. Detta medför att testosteron produktionen minskar, vilket i sin tur försämrar fertiliteten. Studien som utfördes av Akingbemi *et al.* (2004) använde råttor av stammen Long-Evans och råttorna exponerades för BPA med koncentrationerna 2,4 µg/kg/dag, 10 µg/kg/dag, 100 mg/kg/dag eller 200 mg/kg/dag. Vid exponering för 2,4 µg/kg/dag hittades en minskad produktion av testosteron och LH som indikerar en minskad hypofys sekretion av LH, denna effekt upptäcktes dock inte i de högre koncentrationerna. Vid exponering för 10 µg/kg/dag var testosteron produktionen lägre jämfört med kontrollgruppen. Akingbemi *et al.* (2004) undersökte även om exponering för BPA perinatalt påverkar testikelfunktionen hos vuxna hanar vid åldern 90 dagar. Dräktiga honåttor fick en koncentration på 2,4 µg/kg/dag och de hanliga avkommorna fick ingen ytterligare exponering. När hanarna var 90 dagar blev de slumpmässigt selekterade för analys. Akingbemi *et al.* (2004) fann likvärdiga nivåerna av LH och testosteron hos kontrollgruppen som hos råttorna som blev exponerade. Dock upptäcktes en lägre produktion av testosteron i leydigcellerna hos råttorna som blivit exponerade för BPA under den perinatale perioden. Studien som utfördes av Salian *et al.* (2009a) omfattade råttor av Holtzman stam under neonatal exponering, och hittade hormonförändringar i koncentrationerna 400 respektive 1600 µg/kg kroppsvikt BPA. LH och FSH minskade signifikant och testosteron nivåerna ökade vid koncentrationen 400 µg/kg kroppsvikt.

Reaktiva syreföreningar (ROS)

Reaktiva syreföreningar (ROS) produceras spontant av spermier i en liten mängd, vilket innefattar bland annat superoxid (SO) anjon, väteperoxid (HP) och kväveoxid (NO). ROS innehåller höga halter av fleromättade fettsyror som spermier anses vara känsliga för. Om ROS produktionen blir för stor kommer inte spermiers antioxidantförsvar kunna skydda spermerna mot de höga halterna av ROS. Spermerna kommer då i ett tillstånd som kallas för oxidativ stress och spermernas membran och DNA-sträng tar då skada (Guthrie & Welch 2012; Minamiyama *et al.*, 2010).

BPA:s effekt på ROS

Minamiyama *et al.* (2010) utförde en studie som undersökte ROS produktion och dess påverkan på spermier hos råttor vid exponering för BPA. Råttor av Wistar stam användes vilket blev exponerade via deras vattenintag med koncentrationerna 1 respektive 10 mg/l. Under studiens gång hade råttorna fri tillgång till vatten som innehöll BPA. En liknande studie utfördes av Chitra *et al.* (2002) som studerade om BPA i låga doser kunde åstadkomma oxidativ stress. De använde också råttor av Wistar stam, där hanarna blev exponerade oralt. Koncentrationerna som användes var 0,2, 2 och 20 µg/kg kroppsvikt. Minamiyama *et al.* (2010) resultat visade att ROS kan orsaka skadade spermier som kan leda till infertilitet. Chitra *et al.* (2002) fann spermier som saknade svans vid koncentrationerna 2 respektive 20 µg/kg kroppsvikt, vilket betyder att spermerna hade försämrad motilitet och hade svårt att färdigställa en befruktning. Studien visade också en ökad nivå av väteperoxid (H₂O₂) och en minskad nivå av det antioxidativa enzymet katalas. I BPA behandlade råttor fann

Minamiyama *et al.* (2010) att ROS produceras i normala och onormala spermier och att BPA ökade ROS nivåerna. Under den första veckans behandling med BPA ökade ROS nivåerna utan att minska spermieantalet, men efter fyra veckor med förhöjda ROS nivåer hade antalet spermier minskat. När spermierna dog på grund av toxiciteten påvisades ingen produktion av ROS. Chitra *et al.* (2002) vägde testiklarna och bitestiklarna och upptäckte att BPA behandlade råttor hade testiklar och bitestiklar som vägde mindre. Det fanns också en minskning av motiliteten i bitestikelns spermier jämfört med kontrollgruppen.

Diskussion

Salian *et al.* (2009b) fann att produktionen av spermier och deras motilitet minskade i avkommorna (F₁), vilket gav råttorna sämre fertilitet. Effekten fanns även kvar oss F₂ och F₃ avkommorna och effekten överfördes via könsceller. Dessa effekter hittades i koncentrationerna 1,2 respektive 2,4 µg/kg kroppsvikt. Akingbemi *et al.* (2004) upptäckte också att produktionen av spermier minskar vid BPA exponering, vid koncentrationerna 1,2 respektive 2,4 µg/kg/dag. Orsaken till denna minskning är att testosteronet i leydigcellerna minskade, vilket i sin tur minskade produktionen av spermier, vilket gav hanarna sämre fertilitet (Akingbemi *et al.*, 2004). Dessa studier exponerade råttor perinatalt och använde sig av likvärdiga koncentrationer BPA. Råttstammarna var dock olika men studierna fick ändå samma resultat, nämligen att BPA har negativa effekter på råttors fertilitet.

Doshi *et al.* (2013) hittade störningar i generna *IGF2* och *H19*, vilket kan vara en möjlig mekanism för hur BPAs negativa effekt på fertiliteten hos hanar uppkommer. Råttorna blev exponerade för koncentrationen 400 µg/kg kroppsvikt, under den neonatala perioden. Salian *et al.* (2009a) hittade däremot en minskning av antalet spermier och försämring av spermernas motiliteten vid exponering med koncentrationer på 200, 400, 800 och 1600 µg/kg kroppsvikt under den neonatala perioden. Även om det var vissa skillnader i de parametrar som undersöktes visar resultaten i dessa studier att hanar får en sämre fertilitet vid exponering för BPA under den neonatala perioden och att effekterna uppstår efter exponering för både låga och höga koncentrationer BPA.

Resultaten från de neonatala och perinatala studierna kan jämföras med Tiwari och Vanages (2013) studie som undersökte råttor vid vuxen ålder. Deras resultat visar en minskning av spermieproduktionen vid koncentrationerna 10 µg/kg kroppsvikt respektive 5 mg/kg kroppsvikt och en minskning av spermiers motilitet vid koncentrationen 5 mg/kg kroppsvikt. Wisniewski *et al.* (2015) upptäckte att spermieproduktionen minskade med 50 procent, spermiereserverna minskade med 70 procent och spermiers transittid minskade med 50 procent. Dessa effekter upptäcktes vid koncentrationerna 5 respektive 25 mg/kg kroppsvikt. Studien visade även en ökad mängd defekta spermier som i sin tur leder till en försämrad fertilitet. Tiwari och Vanage (2013) samt Wisniewski *et al.* (2015) hittade båda en minskning av spermieproduktionen, även om koncentrationerna som undersöktes inte var desamma. Studierna som utförts under den neonatala och perinatala perioden skiljer sig åt eftersom råttorna blev exponerade under olika perioder i livet, dock skiljer sig inte resultaten lika mycket åt som kan vara förväntat. Råttor som blir exponerade under den neonatala perioden får en minskad produkt-

ion av spermier, försämring på spermiernas motilitet och minskad produktion av testosteron (Salian et al., 2009a). Råttor som blir exponerade under den perinatale perioden får också en minskad produktion av spermier och spermimotilitet, men dessa effekter kommer även att överföras till råttors avkommor i minst två generationer (Salian et al., 2009b).

Akingbemi *et al.* (2004) upptäckte en minskad produktion av testosteron och LH vid koncentrationen 2,4 µg/kg/dag. Däremot hittade Salian *et al.* (2009a) att testosteron mängden ökade vid exponering för 400 µg/kg kroppsvikt BPA. Dessa skillnader i testosteron mängd kan bero på att koncentrationerna är olika i studierna och att Salian *et al.* (2009a) exponerade råttorna neonatalt. Det som är intressant med Akingbemi *et al.* (2004) studie är att de inte fann någon effekt när råttorna blev exponerade för de högre koncentrationerna 10 µg/kg/dag, 100 och 200 mg/kg/dag. Detta kan betyda att exponering för BPA vid högre koncentrationer inte ger någon påverkan på reproduktionen eftersom hormonreceptorerna blir mättade, dock behövs det utföras studier som bevisar detta. Tohei *et al.* (2000) fann att testikelfunktionen bromsas vid exponering för 1 mg BPA och att LH:s plasmanivåer ökar. Denna ökning av LH förklaras med att det sker en minskning av den negativa feedback regleringen av testosteron. Vid detta skede minskar produktionen av testosteron (Tohei et al., 2000) vilket även Akingbemi *et al.* (2004) observerade. Salian *et al.* (2009a) såg däremot att LH minskade vid koncentrationerna 400 respektive 1600 µg/kg kroppsvikt och ökad produktion av testosteron vid 400 µg/kg kroppsvikt BPA. Sammantaget visar dessa studier tydliga tecken på en störning i hormonmiljön hos råttor som tyder på att BPA har potential att störa hypotalamus- hypofys- testikel axeln (Salian et al., 2009a). Dessa tre studier har gett resultat som pekar åt olika håll och en faktor som kan ha bidragit till detta är att de har använt olika koncentrationer av BPA, men det kan också bero på att de använt sig av olika råttstammar och att dessa har olika känslighet för östrogen.

Minamiyama *et al.* (2010) visade att höga halter av BPA (1 och 10 mg/l) orsakade en hög produktion av ROS vilket slutligen resulterar i infertilitet hos råttor. ROS produktionen ökade så pass mycket att den blev skadlig för spermier, då deras antioxidantförsvar mot ROS inte kunde skydda dem. När ROS nivåerna ökar kommer spermier in i ett tillstånd som kallas för oxidativ stress (Guthrie & Welch 2012), vilket observerades i en studie av Chitra *et al.* (2002). Studien visade en ökad produktion av H₂O₂ och en minskad nivå av antioxidanta enzymet katalas. Katalas är ett ämne som kan eliminera H₂O₂, men på grund av exponering för BPA minskade katalas nivåerna vilket resulterade i att spermier hamnade i oxidativ stress. Koncentrationerna som användes var 0,2, 2 eller 20 µg/kg kroppsvikt (Chitra et al., 2002). Det är svårt att jämföra studierna då det inte framgår i Chitra *et al.* (2002) studie exakt hur råttorna blev exponerade. Det är även svårt att jämföra koncentrationerna eftersom de skiljer sig och råttorna i Minamiyama *et al.* (2010) studie blev exponerade för BPA via fri tillgång på vattnen. Minamiyama *et al.* (2010) och Chitra *et al.* (2002) kom dock båda fram till att BPA höjer ROS nivåerna. En ökning av ROS nivåerna gör att spermierna inte kan hantera halterna och deras försvar slutar fungera, vilket bidrar till att de hamnar i oxidativ stress.

I studierna har koncentrationen BPA varierat mycket, dock kan det konstateras att det inte krävs mycket för att reproduktionen ska påverkas. Enligt EFSA är 0,05 mg/kg kroppsvikt/dag den accepterade intaget av BPA (UNEP & WHO, 2012). Chitra *et al.* (2002) har dock visat

att motiliteten i bitestikelspermier påverkas vid en koncentration på 0,2 µg/kg kroppsvikt, vilket är mycket lägre än EFSA:s rekommenderade koncentration/dag. Det som kan ha bidragit till Chitra *et al.* (2002) resultat är att de använde plastburar i studien, vilket kan ha exponerat råttorna för en högre koncentration BPA. Detta eftersom plastburar innehåller BPA som kan läcka ut från burarna och en studien utförd av Howdeshell *et al.* (2003) visar detta, De fann ett läckage av BPA i polykarbonatburar och de såg att desto äldre burarna är desto större blev läckaget.

Slutsats

Slutsatser som kan dras är att BPA påverkar hanrättors reproduktion. Spermieproduktionen och spermimotiliteten försämras, oavsett när i livet råttan blir exponerad för BPA. Det sker förändringar hos hormoner som stör hypotalamus- hypofys- testikel axeln. ROS produktionen ökar vid exponering för BPA som medför att spermier hamnar i oxidativ stress. Alla dessa effekter på spermier gör att hanrättor får en försämrad fertilitet. På grund av att dessa effekter är synliga på råttor och det faktum att BPA läcker ut från olika konserverade livsmedelsbehållare kan BPA vara en möjlig kemikalie som orsakar liknande effekter på männens fertilitet. Det bör därför utföras fler studier på råttor som en modell för människan som inte använder sig av plastburar vilka innehåller BPA eftersom detta kan påverka resultaten. Genom fortsatta studier kan effekterna av BPA kartläggas mer i detalj, förståelsen för hur BPA kan orsaka försämring av spermiekvaliteten kan öka och om det finns en koppling till den ökade förekomsten av testikelcancer hos människan.

Litteraturförteckning

- Akingbemi, B., Sottas, C., Koulova, A., Klinefelter, G. & Hardy M. (2004). Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat leydig cells. *Endocrinology*, vol. 145(2), ss. 592– 603.
- Chitra, K.C., Latchoumycandane C. & Mathur P.P. (2002). Introduction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology*, vol. 185, ss. 119-127.
- Doshi, T., D'souza, C. & Vanage, G. (2013). Aberrant DNA methylation at Igf2–H19 imprinting control region in spermatozoa upon neonatal exposure to bisphenol A and its association with post implantation loss. *Molecular Biology Reports*, vol. 40(8), ss. 4747-4757.
- Guthrie, H. D. & Welch, G. R. (2012). Effects on reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology*, vol. 78, ss. 1700-1708.
- Hess, R. A. (1990). Quantitative and qualitative characteristics of the stages and transitions in the cycle of the rat seminiferous epithelium: light microscopic observations of perfusion-fixed and plastic-embedded testes. *Biology of reproduction*, vol 43, ss 525-542
- Howdeshell, K. L., Peterman, P. H., Judy, B. M., Taylor, J. A., Orazio, C. E., Ruhlen, R. L., Vom Saal, F. L. & Welshons, W. V. (2003). Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental health perspectives*, vol. 111, ss. 1180-1187.
- Livsmedelsverket (2011). *Råd om mat för barn 0-5 år - vetenskapligt underlag med risk- eller nytovärderingar och kunskapsöversikter*. Rapport 21-2011, ss 42-44

- Minamiyama, Y., Ichikawa, H., Takemura, S., Kusunoki, H., Naito, Y. & Yoshaikawa, T. (2010). Generation of reactive oxygen species in sperms of rats as an earlier marker for evaluating the toxicity of endocrine-disrupting chemicals. *Free Radical Research*, vol. 44(12), ss. 1398–1406.
- Salian, S., Doshi, T. & Vanage, G. (2009a). Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology*, vol. 265, ss. 56-67.
- Salian, S., Doshi, T. & Vanage, G. (2009b). Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life sciences*, vol. 85, ss. 742-752.
- Sjaastad, O. V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press. ss. 685, 694-701.
- Tiwari, D. & Vanage, G. (2013). Mutagenic effect of Bisphenol A adult rat male germ cells and their fertility. *Reproduktive toxicology*, vol. 40, ss. 60-68.
- Tohei, A., Suda, S., Taya, K., Hashimoto, T. & Kogo, H. (2000). Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rat. *Experimental biology and medicine*, vol. 226(3), ss.216-21.
- United Nations Environment Programme (UNEP) & World Health Organization (WHO). (2012). *State of the science endocrine disrupting chemicals - 2012*, ss.196.
- Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N. & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive toxicology*, vol 24, ss. 139-177.
- Wetherill, Y. B., Akingbemi, B. T., Kannod, J., McLachlan, J. A., Nadal, A., Sonnenschein, C., Watson, C. S., Zoeller, R. T. & Belcher, S. M. (2007). *In vitro* molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reproductive toxicology*, vol 24, ss. 178-198.
- Wisniewski, P., Romano, R. M., Kizys, M. M. L., Oliveira, K. C., Kasamatsu, T., Giannocco, G., Chiamolera, M. I., Dias-da-Silva, M. R. & Romano, M. A. (2015). Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic–pituitary–testicular axis. *Toxicology*, vol. 329, ss. 1-9.